

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 川上 紘佳
学位論文題目 PI15, a Novel Secreted WNT-signaling Antagonist,
Regulates Chondrocyte Differentiation

審査委員（主査氏名） 有吉 渉 （署名） 有吉 渉
（副査氏名） 小野 堅太郎 （署名） 小野 堅太郎
（副査氏名） 吉賀 大午 （署名） 吉賀 大午

学位審査結果の要旨

脊椎動物の骨格形成において、間葉系前駆細胞からの軟骨細胞への分化と成熟は、複数の分泌因子とシグナル伝達経路によって厳密に調整されている。WNT シグナル伝達経路は、軟骨形成に主要な役割を果たしていることが証明されている。しかし、軟骨細胞において、WNT の活性を微調整する分泌型因子については、未だ明らかになっていない点が多くある。

本研究では、軟骨細胞の分化過程でダイナミックに発現が上昇する新規分泌型 WNT アンタゴニストとして、CAP (cysteine rich secretory proteins, antigen 5, and pathogenesis related 1 proteins) タンパク質スーパーファミリーのメンバーである PI15 (peptidase inhibitor 15, protease inhibitor 15, SugarCrisp) を同定し、その機能を検討した。軟骨前駆細胞株 ATDC5 細胞、線維芽細胞株 C3H10T1/2 細胞、初代軟骨細胞における shRNA を介した PI15 のノックダウンは軟骨形成を阻害する一方で、PI15 を過剰発現させた細胞では、軟骨形成能が強く増強することが、real-time RT-qPCR 法による軟骨分化マーカー遺伝子の発現同定やアルシアンブルー染色の結果から確認された。

タンパク質間相互作用ネットワークを利用した解析結果では、PI15 の結合パートナーとして、WNT 複合受容体のメンバーである LRP6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 6) が見出され、免疫沈降法の結果、PI15 と LRP6 の物理的な結合が確認された。また PI15 は、WNT3A 誘導性の LRP6 のリン酸化や転写活性を抑制し、軟骨形成に対する WNT シグナルの阻害作用を緩和した。さらに、 β -カテニンの強制発現や塩化リチウム処理により、LRP6 の下流で WNT シグナルを刺激すると、PI15 の軟骨形成促進作用が阻害された。

以上の結果から、PI15 は軟骨形成の重要な制御因子として働くことが示唆され、軟骨細胞由来分子が軟骨形成を促進するメカニズムが明らかになった。これらの研究成果は、臨床において、骨格組織における WNT 活性を調節するための有望な標的分子の提供に繋がる可能性が期待される。また今後、発生や骨格のホメオスタシス維持における PI15 の生理学的役割に焦点を当てた研究を継続することで、PI15 の理解をさらに深めると考えられる。

本研究内容について申請者の川上氏に対し、研究の背景や実験の手技の詳細や意義、結果の解釈、今後の研究展開などについて、主査と2名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。本研究は、いまだ不明な点が多い軟骨分化プログラムに関して、分泌因子による新規の調整機構を証明したものであり、今後の研究の深化が、骨格形成のシステムのさらなる理解に繋がることが期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。